

正交试验优选当归水提取工艺条件的研究

沈亮,徐方成*,蓝云才,洪金庆(厦门大学化学工程与生物工程系,福建 厦门 361005)

当归为多年生伞形科草本植物,主产于甘肃、云南、四川等地,根部入药,功能主治补血活血,调经止痛,润肠通便,其主要有效成分是阿魏酸。阿魏酸的化学名称为4-羟基-3-甲氧基肉桂酸,有顺式和反式两种,顺式为黄色油状物,反式为白色至微黄色结晶物,一般系指反式,分子量194.19,熔点174℃,微溶于冷水,可溶于热水。阿魏酸具有很强的抗氧化活性和抗菌活性,除了医药,在食品、化妆品、液晶、饲料添加剂等行业都有很广泛的用途^[1]。

中药的浸取是溶剂进入药材,将有效成分从固相转移到液相的过程。一般认为,有效成分在药材中的扩散是决定浸出速率的主要步骤。影响浸出的因素主要有溶剂、温度、压力、固体药材粒度与液体的流动状态等^[2]。本文用正交试验法确定用水作溶剂从生药当归中提取有效成分阿魏酸的优

化工艺条件,具有一定的现实意义。

1 仪器与试剂

仪器:UNICAM UV300 型紫外-可见光分析仪(英国 UNICAM),BS110S 型电子天平(德国 SARTORIUS),TDL-40B 型台式离心机(上海安亭科学仪器厂),R-205 型旋转蒸发器(瑞士 BUCHI)、W202B 型恒温水浴锅(上海申胜生物技术有限公司),SHB-ⅢA 型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司),针筒膜过滤器($\Phi 0.22\mu\text{m}$)。

试剂:当归(中国泉州海峡药业有限公司)、阿魏酸(标准品,中国药品生物制品检定所,0773-9910)。

2 正交设计

2.1 因素-水平的确定

在当归的水提取中,重点考察浸取温度、时间,加水倍量

* 通讯作者:徐方成,福建厦门大学 1103 信箱,361005。邮件地址:fcxu@xmu.edu.cn

(水和当归的质量比)3个因素,每个因素选择3个水平。列因素-水平^[3]如表1。

表1 正交试验的因素和水平

水平	因素		
	A 温度(℃)	B 时间(min)	C 加水倍量
1	50	30	6
2	80	60	8
3	100	90	10

表2 正交试验实施方案及计算结果

实验号	A	B	C	D	阿魏酸的浓度(ppm)
1	1	1	3	2	226.7994
2	2	1	1	1	414.7768
3	3	1	2	3	303.1966
4	1	2	2	1	228.8098
5	2	2	3	3	398.6932
6	3	2	1	2	443.9284
7	1	3	1	3	331.3430
8	2	3	2	2	426.8396
9	3	3	3	1	318.2750
M ₁	786.9522	944.7728	1190.0480	961.8617	
M ₂	1240.3100	1071.4310	958.8460	1097.5670	
M ₃	1065.4000	1076.4580	943.7676	1033.2330	
R	453.3575	131.6848	246.2807	135.7057	

3 实验方法

3.1 样品的制备

取当归适量粉碎,用电子天平精密称取10g,按表2中的正交设计方案加入纯净水,室温下冷浸20min,再水浴浸取,完成水提后过滤,将滤液减压浓缩到原来体积的三分之一左右,用高速离心机和针筒膜过滤器分离提纯当归水提液的浓缩液。依次重复操作得1-9号样品液。

3.2 阿魏酸的测定

3.2.1 检测波长的确定 用电子天平准确称取5mg阿魏酸标准品,置50mL的棕色容量瓶中加水定容到刻度线,制备得100ppm的阿魏酸标准液,在波长250~400nm范围内全扫描,结果在波长315nm处有最大吸收峰,由此确定检测波长为315nm。

3.2.2 标准曲线的制备 精密量取阿魏酸标准液4,6,8,10,12,15mL,分别置于100mL量瓶中,稀释至刻度,摇匀。在315nm波长处测定吸光度。以浓度(C)对吸光度(A)进行线性回归,得回归方程 $C = 20.05547 A + 0.0548$ ($r = 0.99878$)。

3.2.3 样品含量测定 取1~9号样品液,在315nm波长处测定吸光度,按标准曲线计算出样品含量,结果见表2。

4 结果分析

4.1 极差分析

根据极差R,各因素影响大小顺序为 $A > C > B$ 。各因素

2.2 正交设计表

本项研究不考虑各因素间的交互作用,选择 $L_9(3^4)$ 正交表,见表2,空列D作为误差列。

水平变化时阿魏酸含量变化如图1,由图1看出最好的因素水平搭配是 $A_2C_1B_3$,即温度80℃,加生药质量6倍的水,提取时间90min为宜。

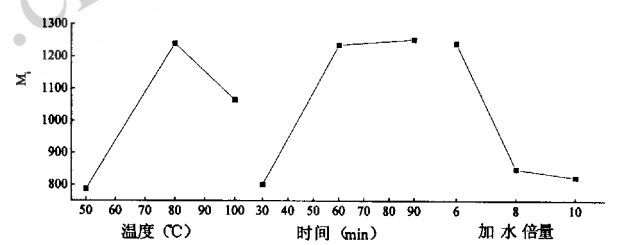


图1 水平变化时指标趋势图

4.2 方差分析

由表3看出影响最大的因素是A(提取温度),因素B和C在实验范围内作用均不显著,因此一味的增加浸取时间没有很大意义,而从经济角度出发也应选择最小的加水倍量。

表3 方差分析表

方差来源	离差平方和 S _j	自由度 f _j	均方 (S)	F 值	显著性 P
A	34851.06	2	17425.53	11.34442	$P < 0.1$
B	3712.06	2	1856.03	1.208318	
C	12704	2	6352	4.135297	
误差	3072.089	2	1536.044		

4.3 工艺验证

由于优化工艺条件 $A_2C_1B_3$ 不在表 2 项中,需另作实验。经验证此条件下水提液中阿魏酸浓度 552.5000ppm,确实为最大。

5 结论与讨论

正交试验得出当归水提取阿魏酸的最佳工艺条件为加生药 6 倍量的水,80℃ 水浴浸取,时间 90min。

试验结果表明温度是影响提取效果最主要的因素,需重点控制。根据阿魏酸微溶于冷水,可溶于热水的性质,本文选择的浸取温度范围是 50 ~ 100℃,结果在 80℃ 水平上阿魏酸浸出效果最好,说明提取温度并非越高越好,分析原因可能是高温引起蛋白质等高分子物质糊化,堵塞孔道,阻碍有效成分从细胞中扩散出。

提取时间和加水量对所得阿魏酸含量的影响不大,选择较小的加水量可以节约成本,便于后续的浓缩,离心分离等

纯化操作。理论上讲,当有效成分在生药及药液中的浓度达到平衡后,便不再向药液中扩散,时间因素就不起作用了,因而并非提取时间越长越好。本文选择的最佳提取时间 90min 有最好的提取效果,且足够长,工业生产可参考此数据作为水提取时间上限。

参考文献

- [1] 许仁溥,许大申. 阿魏酸应用开发[J]. 粮食与油脂, 2000, (6): 7.
- [2] 吕阳成,骆广生,戴猷元. 中药提取工艺研究进展[J]. 中国医药工业杂志, 2001, 32(5), 232.
- [3] 韩芝隆. 概率论与数理统计[M]. 北京:化学工业出版社, 2000.

收稿日期:2004-07-18